

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-322716

(43)公開日 平成5年(1993)12月7日

(51)Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 1/04

H 7519-2 J

C 1 2 M 1/00

A

審査請求 未請求 請求項の数1(全 6 頁)

(21)出願番号

特願平4-130753

(22)出願日

平成4年(1992)5月22日

(71)出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72)発明者 三浦 忠

京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会

社島津製作所三条工場内

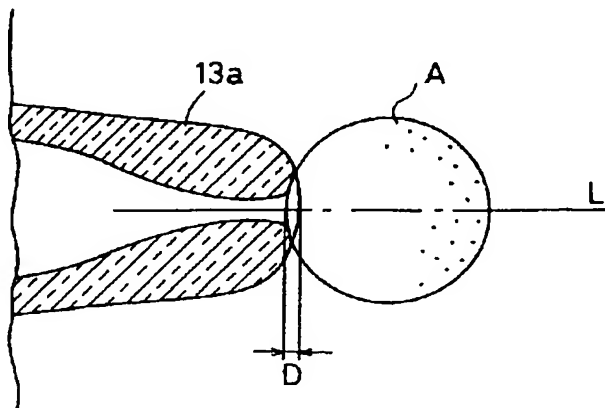
(74)代理人 弁理士 小野 由己男 (外1名)

(54)【発明の名称】 細胞吸着用圧力制御装置

(57)【要約】

【目的】 ホールド用ピペットによる細胞の吸着保持を良好な状態で維持できるようにする。

【構成】 細胞吸着用圧力制御装置は、細胞Aを固定するためのピペット13aの内部圧を調整する圧力制御部25と、細胞Aとピペット13aとを撮像して画像情報を得るテレビカメラ9と、制御部23とを備えている。制御部23では、画像情報から細胞Aの変形を認識し、細胞Aの変形程度に応じて圧力制御部を制御する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】細胞を固定するためのホールド用ピペットを装着可能な細胞吸着用圧力制御装置であって、前記ピペットの内部圧を調整する圧力調整手段と、前記細胞とピペットとを撮像して画像情報を得る撮像手段と、前記画像情報から前記細胞の変形を認識する画像認識手段と、前記画像認識手段で認識された前記細胞の変形程度に応じて前記圧力調整手段を制御する制御手段と、を備えた細胞吸着用圧力制御装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、細胞吸着用圧力制御装置、特に、細胞を固定するためのホールド用ピペットを装着可能な細胞吸着用圧力制御装置に関する。

【0002】

【従来の技術】細胞に微小注射を行ったり細胞内の電位を測定しようとする場合等には、マイクロマニピュレータが用いられる。一般的なマイクロマニピュレータでは、顕微鏡視野下で、ニードルやピペット等の微小器具を操作して、シャーレ等の容器内に入れられた細胞に処理を施すようになっている。

【0003】かかるマイクロマニピュレータにおいて、細胞を吸着保持するために、ホールド用ピペットが用いられる。ホールド用ピペットにはマイクロシリンジがチューブを介して連結されており、マイクロシリンジを操作者が手で操作することによりホールド用ピペットの内部圧を減少させる。これにより、ピペットの先端で細胞を吸着保持する。

【0004】この吸着操作において、ピペット内の圧力を低くしすぎると、細胞の一部がピペット内に吸い込まれて細胞が変形してしまう。この細胞の変形がさらに進行すれば、細胞が破壊される。また、同一圧力下においても、吸引圧によって細胞の変形は経時的に変化する。このため、細胞を常に良好な状態で吸着保持することは容易ではない。

【0005】本発明の目的は、ホールド用ピペットによる細胞の吸着保持を良好な状態で維持でき、細胞の変形を心配せずにインジェクション等の操作者の行いたい操作をできるようにすることにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明に係る細胞吸着用圧力制御装置は、細胞を固定するためのホールド用ピペットを装着可能である。この装置は、ピペットの内部圧を調整する圧力調整手段と、細胞とピペットとを撮像して画像情報を得る撮像手段と、画像情報から細胞の変形を認識する画像認識手段と、その画像認識手段で認識された細胞の変形程度に応じて圧力調整手段を制御する制御手段とを備えている。

【0007】

【作用】本発明に係る細胞吸着用圧力制御装置では、圧力調整手段がピペットの内部圧を調整し、これによってピペットが細胞を吸着保持する。一方、撮像手段が細胞とピペットとを撮像して画像情報を得、その画像情報から画像認識手段が細胞の変形を認識する。そして、制御手段が、画像認識手段で認識された細胞の変形程度に応じて圧力調整手段を制御する。この結果、ホールド用ピペットに吸着保持された細胞の異常変形が防止され、細胞の吸着保持が良好な状態で維持され、細胞の変形を心配せずにインジェクション等の操作が行える。

【0008】

【実施例】図 1 は、本発明の一実施例が採用されたマイクロマニピュレータを示している。このマイクロマニピュレータは、ベース 1 上に載置された顕微鏡 2 と、顕微鏡 2 の側方に配置された 1 対の駆動装置 3、4 と、顕微鏡 2 及び駆動装置 3、4 を制御するための制御装置 5 とを有している。

【0009】顕微鏡 2 は、その中央部に操作台 6 を有しており、操作台 6 には細胞が入れられたシャーレ等の容器 7 が載置されるようになっている。操作台 6 の下方には対物レンズ 8 が配置されており、対物レンズ 8 の下端部にテレビカメラ 9 が接続されている。操作台 6 は、図示しない駆動機構によって水平方向及び上下方向に駆動され得る。

【0010】駆動装置 3、4 は、それぞれベース 1 上に載置されており、台 10 と、台 10 上に取り付けられた粗動部 11 と、粗動部 11 の上部に取り付けられた微動部 12 とを主として有している。微動部 12 の顕微鏡 2 側端部には、微小器具としてのホールド用ピペット 13a とインジェクション用ニードル 13b とが取り付けられている。

【0011】制御装置 5 は、CRT 20 と、操作パネル 21 と、制御ユニット 22 とを主として有している。操作パネル 21 は、ジョイスティックや各種のキーを有するパネルである。制御ユニット 22 内には、図 2 に示すような制御部 23 が設けられている。制御部 23 は、CPU、ROM、RAM 等から構成されており、画像合成回路 24 と、圧力制御部 25 と、圧力センサ 26 と、その他の入出力部とが接続されている。

【0012】画像合成回路 24 には、テレビカメラ 9 の出力端子が接続され、また CRT 20 の入力端子が接続されている。この結果、顕微鏡 2 の操作台 6 に配置された細胞の状況が、CRT 20 上に映像として表示される。また、制御部 23 からの出力画像が、画像合成回路 24 においてカメラ 9 からの画像に合成され、CRT 20 に表示される。表示状況の一例を図 3 に示す。一方、テレビカメラ 9 からの画像情報が、画像合成回路 24 を介して制御部 23 に取り込まれ得るようになっている。

【0013】圧力制御部 25 は、圧力制御ユニット（図

10

20

30

40

50

示せず) 内に設けられており、ホールド用ピペット13 aの内部圧及び注入用ニードル13 bの内部圧を調整するためのものである。圧力センサ26は、容器7内に配置されており、ホールド用ピペット13 aの外部圧を測定するようになっている。次に、図4～図6に示す制御フローチャートにしたがって、上述の実施例の動作を説明する。

【0014】プログラムがスタートすると、図4のステップS1において、圧力制御割込みをOFFにセットする等の初期設定が行われる。次に、ステップS2では、ホールド用ピペット13 aの移動指令がなされたか否かを判断する。ステップS3では、ホールド用ピペット13 aに関する基準圧の設定指令がなされたか否かを判断する。ステップS4では、ホールド用ピペット13 aの内部圧の変更指令がなされたか否かを判断する。さらに、図5のステップS5では、ホールド用ピペット13 aの内部圧の制御指令がなされたか否かを判断する。ステップS6では、その制御指令の解除が指令されたか否かを判断する。ステップS7では、細胞をピペット13 aから離す指令がなされたか否かを判断する。これらステップS2～ステップS7における判断の基準となる指令は、操作者により操作パネル21を介して行われる。ステップS8では、それらの指令に基づく処理以外の一般的な処理がなされる。ステップS8での処理が終われば再び図4のステップS2に戻る。

【0015】ホールド用ピペット13 aの移動指令がなされれば、プログラムはステップS2からステップS10に移行する。ステップS10では、その指令に応じたピペット移動動作を駆動装置3に行わせる。この移動指令によって、操作者は所望の細胞A(図3)にホールド用ピペット13 aの先端を接触させることができる。次に、ピペット13 aの内圧を外圧と一致させるべく、基準圧設定指令がなされれば、プログラムはステップS3からステップS11に移行する。ステップS11では、圧力センサ26を用いてピペット13 aの外側の圧力を読み取る。そして、ステップS12において、当該圧力を記憶する。

【0016】ホールド用ピペット13 aによって細胞Aを吸着保持するべく、圧力変更指令がなされれば、プログラムはステップS4からステップS13に移行する。ステップS13では、圧制御割込み(後述)をOFFにセットする。そして、ステップS14において、指令に応じた圧力変更動作を圧制御部25に行わせる。ここでは、圧力を減少させる旨の指令を受けた場合には圧制御部25がピペット13 aの内部圧を減少させ、圧力を高める旨の指令を受けた場合には圧制御部25がピペット13 aの内部圧を高めるように動作する。このとき、図3に示すように、CRT20には細胞Aのピペット13 aによる吸着状況が表示されているので、操作者はその表示を見ながら、適切な吸着状態になるよう

に圧力変更指令を行う。

【0017】操作者は、細胞Aのピペット13 aによる吸着保持が適切な状態になったと判断すれば、圧制御開始指令を行う。この結果、プログラムは図5のステップS5からステップS15に移行する。ステップS15では、テレビカメラ9からの画像情報に基づいて周知の画像処理を行い、ピペット13 aと細胞Aの中心とを通る基準線L(図7)を決定する。次に、ステップS16において、ピペット13 aの先端とピペット13 a内に配置された細胞Aの先端との距離を基準距離Dと決定する。前記基準線L及び基準距離Dを決定する際には、たとえば、輝度分布を行列座標点のサンプル値として取り込む等の公知の画像処理手法が実施される。ステップS17では、後述する圧制御割込みを可能にするタイマー割込みをONにセットする。

【0018】タイマー割込みがON状態となれば、所定時間間隔で図6に示す圧制御割込みが実行される。図6のステップS20では、その時点でのピペット13 aの先端とピペット13 a内の細胞Aの先端との距離d(図8)を演算する。この距離dの演算に際しても、上述の画像処理手法が用いられる。ステップS21では、距離dを基準距離Dとを比較し、距離dが許容範囲に入っているか否かを判断する。距離dが基準距離Dに基づく許容範囲を超えていると判断された場合にはステップS22に移行する。ステップS22では、圧制御部25を制御することによりピペット13 a内の圧力を減少させる。そして、再びステップS20に戻り距離dの演算を行う。

【0019】ステップS21において距離dが許容範囲内にあると判断されると、圧制御割込みの処理は終了する。ここでは、ステップS17において圧制御割込み用のタイマー割込みがONにセットされた後は、所定時間間隔で図6の圧制御割込み処理が実行されるので、ピペット13 aによる細胞Aの吸着保持を良好な状態で維持できる。そして、その間に、針をさしたり、インジェクションする等の他の動作を行えるため、細胞を良好な状態でホールドしたまま、操作者の行いたい操作ができる。

【0020】ピペット13 aの圧制御を終了する旨の指令を操作者から受けると、プログラムは図5のステップS6からステップS18に移行する。ステップS18では、圧制御割込み用のタイマー割込みをOFFにセットする。この結果、図6の圧制御割込み処理が実行されなくなる。ピペット13 aから細胞Aを離す旨の指令がなされれば、ステップS7からステップS19に移行する。ステップS19では、圧力センサ26によって測定された外部圧値に僅かな圧力値 α を加えた圧力にピペット13 a内がなるよう、圧制御部25を制御する。この結果、ピペット13 aの内部圧が外部圧よりも高くなり、細胞Aがピペット13 aから離れる。

5

【 0 0 2 1 】 【 他 の 実 施 例 】

(a) 前記実施例では、タイマー割り込み機能を用いてピペット 1 3 a 内の圧力制御を行ったが、一般的なマイクロマニピュレータ用制御部 (C P U) に加えて、圧力制御専用の C P U を使用することにより本発明を実施してもよい。

(b) 前記実施例では、図 4 のステップ S 1 2 において記憶された圧力を基準圧として後続の制御に用いたが、後続の圧力制御の都度圧力センサ 2 6 による圧力測定を行ってもよい。

(c) マイクロマニピュレータとしては、微動部・粗動部分離タイプではなく、一体型のものでもよい。

(d) 細胞処理としては、上述のインジェクションに限らず、核移植等種々の処理が本発明の対象となる。

(e) 最初に細胞 A をピペット 1 3 a に吸着させる際の動作 (ステップ S 1 4) を、手動ではなく自動で行ってもよい。

(f) 圧力センサ 2 6 を使わず、外側圧力を (外気圧 + 水深による圧力増加分) として計算された計算値としてもよい。

【 0 0 2 2 】

【発明の効果】 本発明に係る細胞吸着用圧力制御装置で

6

は、画像認識手段で認識された細胞の変形程度に応じてピペット用圧力調整手段を制御手段が制御するので、ホールド用ピペットによる細胞吸着保持を良好な状態で維持でき、細胞の変形を心配せずにインジェクション等の操作が行えるようになる。

【 図 面 の 簡 単 な 説 明 】

【 図 1 】 本発明の一実施例が採用されたマイクロマニピュレータの正面概略図。

【 図 2 】 その制御部の概略ブロック図。

【 図 3 】 その C R T の一表示状態を示す正面図。

【 図 4 】 その制御フローチャート。

【 図 5 】 その制御フローチャート。

【 図 6 】 その圧制御割り込みの制御フローチャート。

【 図 7 】 細胞吸着動作の基準状態を示す概念図。

【 図 8 】 細胞吸着動作の一状態を示す概念図。

【 符 号 の 説 明 】

A 細胞

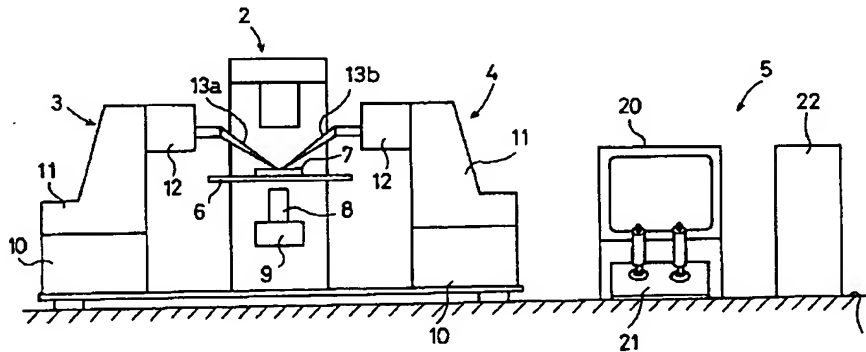
9 テレビカメラ

1 3 a ホールド用ピペット

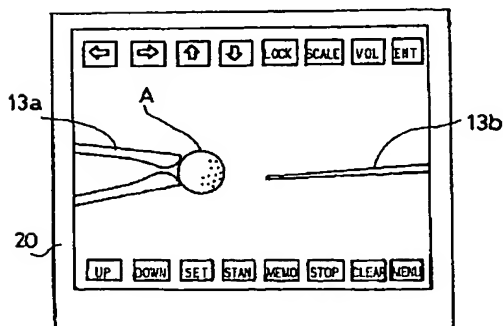
2 3 制御部

2 5 圧力制御部

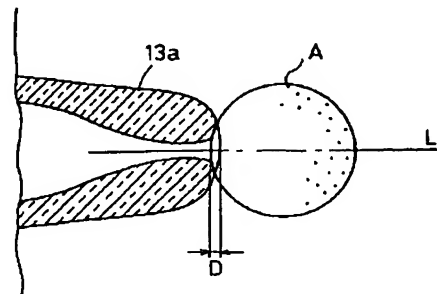
【 図 1 】



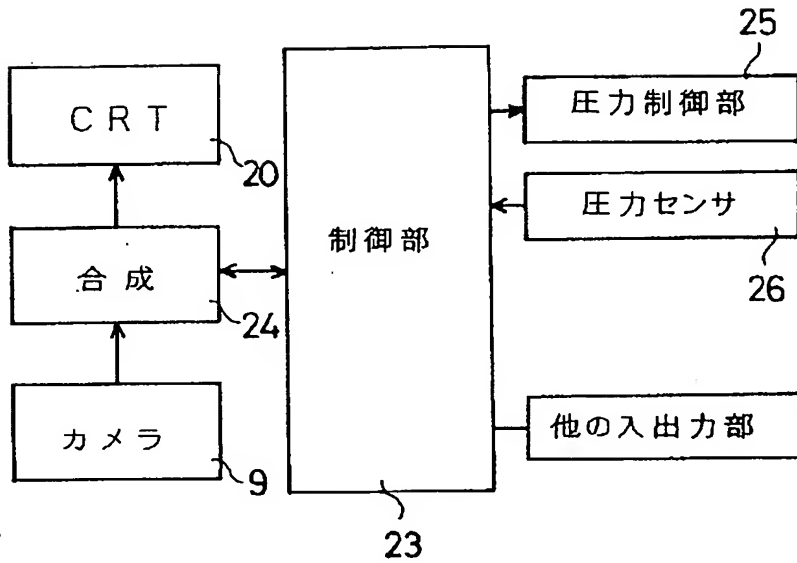
【 図 3 】



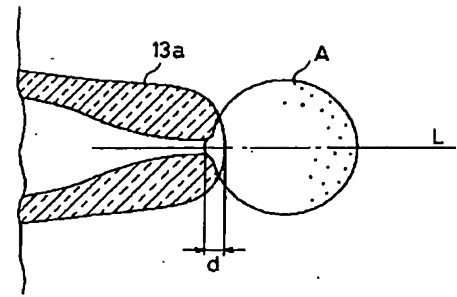
【 図 7 】



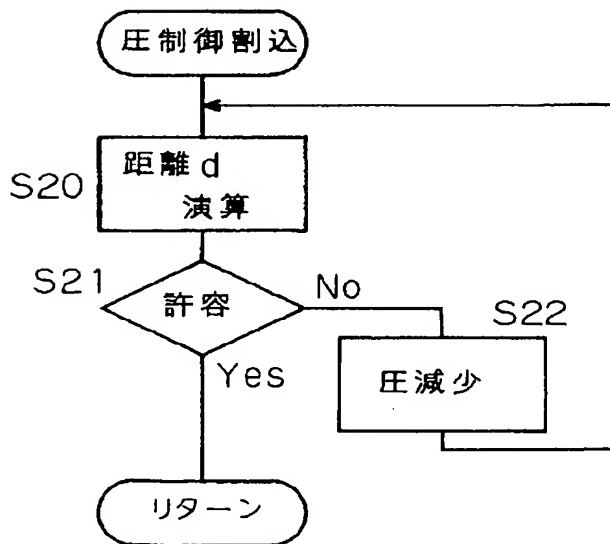
【図 2】



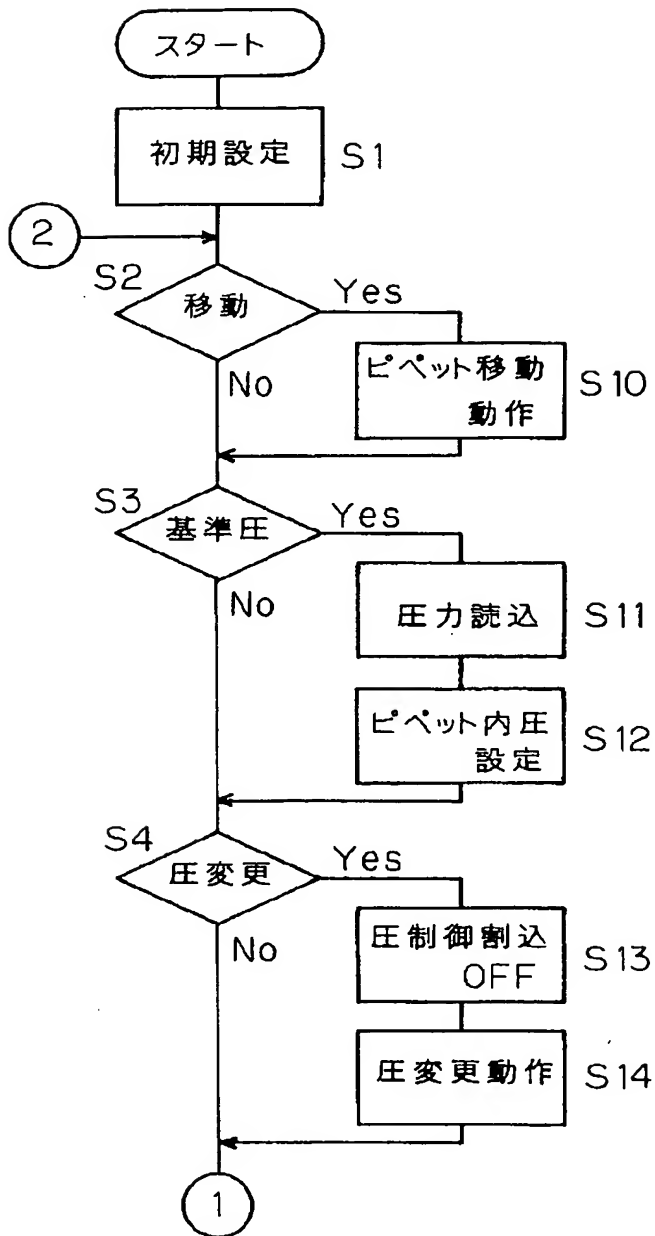
【図 8】



【図 6】



【図4】



【図5】

